

**Agarelektrophoretische und biochemische Analysen
der Serumproteine tumortragender Versuchsratten**

von
Ruth Szelwis
aus München

1968

1968 № 125

Aus der Abteilung für klinische Immunologie
des Universitätskrankenhauses
Erlangen-Nürnberg

Vorstand: Professor Dr. F. Scheiffarth

Agarelektrophoretische und biochemische
Analysen der Serumproteine tumortragen-
der Versuchsratten.

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
der
FRIEDRICH-ALEXANDER-UNIVERSITÄT
zu
ERLANGEN-NÜRNBERG

vorgelegt von
Ruth Szelwis
aus München

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Professor Dr. med. E. Wetterer
Referent: Professor Dr. med. F. Scheiffarth

Tag der mündlichen Prüfung: 1. April 1968

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1-2
Versuchsanordnung und Methodik	2-12
Ergebnisse	13-21
Diskussion	22-25
Zusammenfassung	26
Literaturverzeichnis	27-32



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546208_0092

E i n l e i t u n g :

Untersuchungsergebnisse über Serumeiweißveränderungen bei tumortragenden Tieren und insbesondere bei klinisch beobachteten Kranken mit Malignomen sind aus der einschlägigen Literatur bekannt (2,3,4,6,7,8,12, 18,22,24,27,37).

Abgesehen von Abwandlungen des Serumeiweißbildes im Verlaufe einer Tumorerkrankung bzw. in Abhängigkeit von der Generalisierung, bzw. Metastasierung eines malignen Prozesses werden heute zwei Dysproteinämie-typen als malignomverdächtig angesehen:

Es handelt sich erstens um den α_2 -Typ, den " Typus der malignen Tumoren " nach WUHRMANN und WUNDERLY (37) bzw. den " Dysproteinämietyp II " nach RIVA (22), bei welchem eine Hypalbuminämie mit relativer Vermehrung der Globuline, vorwiegend aber der α -Globuline faßbar wird. Vielfach findet man bei diesem Konstellationstyp eine Hypogammaglobulinämie. Zweitens handelt es sich um den " α/γ -Typ" (37) bzw. "Dysproteinämietyp III" (22), bei welchem neben einer mehr oder weniger stark ausgeprägten Hypalbuminämie und relativer Vermehrung sämtlicher Globuline, sowohl α_2 - als auch γ -Globuline an dieser Globulinvermehrung auffällig beteiligt sind. Diese Befunde sind hinlänglich bekannt und werden bereits seit Jahren auch in der klinischen Diagnostik mitbewertet.

Biochemische Untersuchungen der Serumproteine im Ablauf maligner Erkrankungen sind naheliegenderweise im einschlägigen Schrifttum ebenfalls dargelegt (1,2,17, 12,19,20,21,27,29,35).

Besonderes Interesse fandem im Rahmen solcher Untersuchungen die Glycoproteide (1,2,4,7,8,17,18b,19,20, 21,22,29), aber auch die Aminosäuresequenz der verschiedenen Serumkomponenten (6,7,37), kupfer- und eisentragende Fraktionen (30,37). Selbstverständlich liegen auch zahlreiche Untersuchungen über das Verhal-

ten der LDH und anderer Fermente in den Seren von Tumorkranken vor (7). Über systematische Analysen elektrophoretisch getrennter Serumeiweißkörper, insbesondere unter Berücksichtigung auch von Fermenten, sind jedoch keine entsprechenden Untersuchungen dargestellt. Insbesondere hat die Serumprotein- und Serumfermentanalyse durch Einführung neuerer biochemischer Nachweismethoden eine weitere Differenzierung erfahren, so daß einer Reihe von Serumfaktoren Beachtung geschenkt werden dürfte. Es erscheint infolgedessen berechtigt, im nachfolgenden über Serumbefunde bei tumortragenden Tieren zu berichten.

I. Tiermaterial:

Die Analysen wurden sämtlich an den Seren weisser Wistar-Ratten vorgenommen. Von ihnen waren insgesamt 30 im Versuch.

II. Versuchsanordnung:

Eine Gruppe von 10 Ratten wurde als Trägartiere für Tumortransplantation ohne weitere Behandlung vorgesehen. Fünf von ihnen wurden mit Yoshida-, fünf andere Ratten mit Walker-Tumorzellen behandelt (Transplantation in Nackenmuskulatur).

Eine weitere Gruppe von 20 Ratten wurde mit einem spezifischen Anti-Tumor-Serum vom Kaninchen behandelt und anschließend mit Tumorzellen beschickt. Hierbei wurde hinsichtlich der Behandlung mit dem spezifischen Antiserum folgendermaßen vorgegangen: Die Tiere erhielten pro Tag und Injektion 0,5ml des spezifischen Antiserums viermal unter Auslas-

sung eines behandlungsfreien Tages i.p. appliziert. Unmittelbar danach wurde der Tumor transplantiert, die Antiserumapplikation im gleichen Abstand noch einmal vorgenommen und dann abgesetzt. Die genannten 20 Ratten dieser Gruppe zerfielen wiederum in 10 Tiere, welchen Yoshida-Tumor transplantiert wurde, sowie in 10 Tiere, die mit Walker-Sarkom behandelt wurden (s.Tab. I). In vorliegender Arbeit wurden sowohl von einem Serumpool unbehandelter Ratten als auch von den einzelnen Seren der letzten Kontrolle aus oben erwähnten Versuchsserien folgende Analysen vorgenommen: Agarelektrophoretische Auftrennung mit nachfolgenden Protein-, Kohlehydrat- und Lipidfärbung, in anderen Fällen mit Bestimmung der Serumesterasen, der Isoenzyme der Lactatdehydrogenase, dem Nachweis peroxydase- sowie oxydaseaktiver Komponenten, sowie Fraktionen mit Amylaseaktivität.

III. Methodik

1. Tierexperimentelle Methoden

Mit Bezug auf die für das Tierexperiment erforderlichen Maßnahmen, wie Aufbereitung des Tumormaterials, Transplantation der Tumorzellen, Herstellung der spezifischen Anti-Tumor-Seren etc. wird auf frühere Mitteilungen verwiesen (12,27).

2. Agarelektrophorese

Die Agarelektrophorese wurde im wesentlichen nach den Angaben von GRABAR und WILLIAMS (9,10,13,14,15, 36) vorgenommen.

5 Ratten mit Yoshida-Tumor

Gruppe I :

(Trägartiere)

5 Ratten mit Walker-Tumor

Gruppe II :

Mit Anti-Tumor-Serum
vorbehandelte und an-
schließend mit Tumor-
zellen transplantierte
Ratten.

10 Ratten Anti-Yoshida-Serum
und nachfolgende Transplan-
tation von Tumorzellen.

10 Ratten Anti-Walker-Serum
und nachfolgende Transplan-
tation von Walker-Tumorzel-
len.

T a b e l l e 1

Arbeitsgang:

Objektträger wurden mit 3,5 ml flüssigem Agar beschickt. In der Mitte jeder Elektrophoreseplatte wurde eine Vertiefung von 12x2x1,5 mm ausgestanzt. Die Wahl der Auftragestelle in der Mitte der Platten hat sich deshalb als notwendig erwiesen, weil bei elektrophoretischer Auftrennung einer Eiweißsubstanz im Gelmilieu nur Albumine und α -Fraktionen anodisch, β - und γ -Globuline jedoch infolge Endosmose kathodisch wandern. Es wurde folgendes Gemisch vorbereitet:

0,1 ml Rattenserum

0,1 ml Aqua dest.

0,2 ml Agar-Agar flüssig

Von der flüssigen Serum - Agar - Mischung ließ man nun 0,5 ml in die vorgestanzte Aussparung vorsichtig einlaufen. Die Auftragestelle wurde schließlich mit flüssigem Elektrophoreseagar überschichtet. Zur Elektrophorese wurde eine geeignete Kammer verwendet. 4cm lange Elektrophoresepapierstreifen wurden in doppelter Lage geschnitten, mit einem Ende an die Agarplatte angedrückt, das andere Ende wurde in die Pufferlösung eingetaucht. Die Auftrennung erfolgte in etwa 75 Minuten.

Weitere Behandlung der Platten nach abgeschlossener Elektrophorese:

Je nach Fragestellung, ob die getrennten Proteinfractionen fixiert und gefärbt oder enzymatisch analysiert werden sollen, ergibt sich im weiteren ein unterschiedlicher Arbeitsgang.

Bei der Färbung der Eiweißkomponenten mit Amidoschwarz 10 B, ebenso bei der Färbung der Lipide, werden die Platten nach Abschluß der Elektrophorese für etwa 6 Stunden in ein Bad mit 2%iger Essigsäurelösung gelegt, danach mit einer Lage Filtrierpapier bedeckt

und bei 37°C bis auf einen Agarfilm getrocknet. Sie wurden sodann, den einzelnen Färbevorschriften entsprechend, weiter behandelt. Für die Analysierung von Fermenteigenschaften wurden die Agarplatten nach abgeschlossener Elektrophorese unverzüglich in die entsprechenden Lösungen zur Enzymaktivierung eingelegt und nach jeweiliger Vorschrift weiterbehandelt.

3. Farb- und Fermentreaktionen

a) Proteinfärbung (9,14,32)

1g Amidoschwarz 10 B wurde in 1000 ml eines Gemisches von Acetatpuffer und Glycerin gelöst.

Herstellung des Acetatpuffers:

500 ml Essigsäure (60 ml auf 1000 ml Aqua dest.) wurden mit 500 ml einer Natriumacetatlösung (13,6g Na-acetat + 3 H₂O auf 1000 ml Aqua dest.) gemischt. 850 ml dieses Puffers wurden mit 150 ml Glycerin versetzt. Bei einfacher Agarelektrophorese mußten die einzelnen Fraktionen vorher präzipitiert sein; sie wurden zu diesem Zwecke etwa 12 Stunden in eine 2%ige Essigsäurelösung gelegt.

Färben:

Agarplatten 3 Stunden lang in Färbelösung belassen.

Entfärben:

2%ige Essigsäurelösung versetzt mit 15%igem Glycerin eine Stunde lang unter mehrmaligem Wechseln des Entfärbers. Agargrund darf nur leicht blau getönt sein.

b) Lipoidfärbung (14,31)

1 g Sudanschwarz B wurde in 1000 ml 60%igem Äthanol gelöst, bis zum Sieden erhitzt, heiß filtriert und sofort verwandt. Agarplatten wurden 30 min. lang in dieser Färbelösung belassen, danach 3 mal 15 Minuten lang in 50%igem Äthanol entfärbt.

c) Kohlehydratfärbung (14,31)

Lösung_I_: 10% Hydroxylammoniumchlorid in Na-acetat-Puffer pH 4,7 , Ionenstärke $\mu = 0,1$

Lösung_II: 1% Perjodsäure in 0,2 n Natriumacetatlösung.

Lösung_III: Schiff'sches Reagenz:

1,5 g Fuchsin in 500 ml kochendem Aqua dest. lösen und auf 55°C abkühlen lassen. Filtrieren. Weiter abkühlen lassen bis auf 40°C, dem Filtrat 20 ml 2 n HCl und 3,75 g Na-pyrosulfit hinzugeben. Schütteln. Die Lösung in einem Rundkolben auf 500 ml Aqua dest. auffüllen und für die Dauer von 16 Stunden in den Eisschrank stellen. Danach Tierkohle hinzugeben, 40 - 50 Sekunden belassen und unverzüglich filtrieren. Aufbewahren der Lösung bei 4°C.

Lösung_IV: 50 ml einer 10%igen Na-metabisulfitlösung zusammen mit einer 2 n Salzsäure auf 1000 ml Aqua dest. füllen.

Lösung_V: Lösung IV zu 20% mit Glycerin versetzen.

Arbeitsgang: Die Elektrophoreseplatten wurden nach Abschluß des Trennungsvorganges in einer in 50%igem Alkohol gelösten 2%igen Essigsäurelösung fixiert (oder in 90% Äthanol). Nach Trocknen der Platten bei 37°C unter Filtrierpapier wurden sie

- 15 Min. in Lösung I gehalten,
- 15 Min. unter fließ. Leitungswasser,
- 10 Min. in Lösung II getaucht,
- 10 Min. unter fließendem Leitungswasser gewaschen,
- 3 Min. in Lösung III,

3 mal 3 Min. in Lösung IV unter Wechseln der Lösung gehalten,

3 mal 1 Std. in Lösung V unter Wechseln der Lösung belassen,

Die Platten werden bei 37°C ohne Filtrierpapier getrocknet.

d) Nachweis esteraseaktiver Fermente (14,26)

Die esteraseaktiven Komponenten wurden mit den von URTEL beschriebenen Methoden bestimmt. Dabei wurde in erster Versuchsreihe als Substrat Indoxylacetat verwendet, bei welchem die unter Fermentwirkung freigesetzte Indoxyl durch den atmosphärischen Sauerstoff zu Indigo oxidiert wurde und eine Blaufärbung hinterließ. In einer zweiten Versuchsreihe wurde β -Naphthylacetat angewandt, wobei es durch eine Reaktion des durch die Fermentwirkung freigesetzten β -Naphthols mit einem Diazoniumsalz zu einer Rotviolettgefärbung der esteraseaktiven Komponenten kam. Methodisch wurde im einzelnen wie folgt vorgegangen:

Färbung mit Indoxylacetat

Reagentien: Indoxylacetat

Aceton

Na-Veronal-Puffer, pH 8,2 , u = 0,5

Cu (II)-acetat 10^{-3} molar

Aufbereitung der Inkubationslösung:

5 mg Indoxylacetat wurden in 0,5 ml Aceton gelöst und sofort danach mit 22 ml Na-Veronal-Puffer und 2,5 ml der 10^{-3} molaren Cu (II)-acetatlösung versetzt. Dieses Gemisch mußte innerhalb der nächsten 8 Stunden verwendet werden.

Arbeitsgang:

Unmittelbar nach abgeschlossener Elektrophorese wurden die Agarplatten in die bereitete Inkubationslösung gelegt. Anschliessend wurden sie eine Stunde

lang unter fliessendem Leitungswasser gewaschen und unter Filtrierpapier bei 37°C getrocknet.

Färbung mit B-Naphtylacetat

Reagentien: B-Naphtylacetat

Aceton

Phosphatpuffer pH = 7,4

Diazo-Blau B

Essigsäure 2%ig

Aufbereitung der Inkubationslösung:

5 mg B-Naphtylacetat wurden in 0,25 ml Aceton gelöst. Es bildete sich eine Opaleszenz, die sich jedoch ohne weiteres löste; hierin wurden 10 mg Diazo-Blau B gelöst. Das ganze wurde filtriert und unverzüglich verbraucht.

Arbeitsgang:

Man tauchte unmittelbar nach abgeschlossener Elektrophorese die Agarplatten 60 - 90 Minuten in das aufbereitete Inkubationsmilieu. Anschliessend wurden sie eine Stunde in 2%ige Essigsäurelösung gewaschen und unter Filtrierpapier bei 37°C getrocknet.

e) Lactatdehydrogenase-Nachweis (5,34)

Material und Reagentien:

Natriumlactat

Diphosphopyridinnukleotid (DPN)

Nitro - BT

Phenazinmethosulphat

Inkubationslösung mit Farbreagens:

Zunächst wurden 3 Liter eines Phosphatpuffers nach SÖRENSEN hergestellt, indem 1636 ml 0,5 molares $\text{Na}_2\text{HPO}_4 + 12 \text{ H}_2\text{O}$ mit 364 ml 0,5 molarem KH_2PO_4 aufgefüllt wurden. Die Kontrolle mit der Gaselektrode ergab für den Puffer einen pH-Wert von 7,38 . Um

das Substrat der enzymatischen Reaktion, das Lac=tat, in eine ungefähr molare Konzentration zu bringen, wurden 12 ml einer 50%igen Na-lactatlösung mit Aqua dest. auf 54 ml aufgefüllt. 325 mg Zyankali wurden in 50 ml Aqua dest. gelöst, was einer Konzentration des Salzes von 0,1 Mol pro Liter entsprach. Ebenso wurden 125 mg Nitroblau-Tetrazolium in 125 ml Aqua dest. gelöst. Als Stammlösung wurden 125 ml SÖRENSEN-Puffer, 125 ml Nitroblau-Tetrazolium-, 50 ml 1 Mol Na-lactat- und 50 ml Kaliumzyanid-Lösung gemischt.

Von der Stammlösung wurden je nach Grösse des Inkubationsgefässes 28 ml, 70 ml und 140 ml genommen und DPN und Phenazinmethosulfat im entsprechenden Verhältnis zugesetzt.

Für 28 ml Stammlösung waren es 40 mg DPN in 4 ml, 1 mg Phenazinmethosulfat in 1 ml Aqua dest. gelöst. Die entgültige Inkubationslösung wurde kurz vor dem Ansetzen der Reaktionslösung hergestellt; die gelbe Phenazinmethosulfatlösung veränderte sich unter dem Einwirken des Lichtes über einen grünen Farbumschlag in Rot und verlor damit wahrscheinlich ihre Wirksamkeit, während das Diphosphopyridinnukleotid nach Angabe der Herstellerfirma in Pulverform bei Kühlschranktemperatur länger haltbar war. Von der Inkubationslösung wurde soviel in die Plastikschale gegeben, bis die Agarschicht der darin befindlichen Elektrophoreseplatten gut bedeckt war. Nach 30 Minuten wurden die ersten zart gefärbten Banden sichtbar, 45 Minuten später konnte die Inkubation beendet werden.

Die Platten wurden mit Leitungswasser abgespült.

Fixationslösung:

70 ml absoluten Alkohols und 5 ml Eisessig wurden ad 1000 ml Aqua dest. aufgefüllt, die Platten in

der Lösung 2 Stunden lang fixiert und anschliessend mit Filtrierpapier in den Wärmeschrank gelegt.

f) Nachweis peroxydaseaktiver Komponenten (14,30)

2 g Benzidin wurden in 20 ml Eisessig - eventuell in heissem Wasserbad - gelöst und nach Abkühlen auf 100 ml Aqua dest. aufgefüllt. Diese Lösung wurde mit 0,5 - 1,0 g A-Kohle angesetzt, geschüttelt, 15 Minuten stehen gelassen und in braune Flasche abgefüllt. Diese Lösung wurde mit einigen Tropfen H_2O_2 versetzt und als Färbelösung verwendet. Die Agarplatten wurden bis zu 30 Minuten in dieser Lösung belassen. Es entstand im Bereich der peroxydaseaktiven Komponenten (α_2 - / β_1 -Globulinbereich) eine tief dunkelbraune Färbung.

g) Oxydase-Nachweis (14,25,30,33)

Herstellung der Lösungen

Lösung I: p-Phenylendiamin in Na-acetat-Puffer pH 5,7 . Hierzu wurden im einzelnen folgende Lösungen hergestellt:

1. Eisessig 12,006 g
Aqua dest. ad 1000 ml
2. Na-acetat + 3 H_2O 27,199 g
Aqua dest. ad 1000 ml

Von der unter 1 angegebenen Essigsäurelösung wurden 95,0 ml mit der unter 2 angegebenen Na-acetatlösung ad 1000 ml aufgefüllt. Dieser Puffer von einem pH-Wert von 5,7 und einer Ionenstärke von $\mu = 0,1$ konnte eine Zeitlang aufbewahrt werden.

3. Natriumazid 0,650 g
Aqua dest ad 1000 ml

Diese Natriumazidlösung war ebenfalls beständig.

Wichtig war, daß das eigentliche Reagens, die p-Phenylendiaminlösung jeweils unmittelbar vor Gebrauch vorbereitet werden mußte. Hierzu wurden 21,6 mg p-Phenylendiamin in 100 ml des Na-acetatpuffers pH 5,7 gelöst. Danach gab man 10 ml von der Natriumazidlösung hinzu und erhitzte dieses Gemisch auf 37°C.

Lösung II: Natriumacetatpuffer pH 4,7 (Ionenstärke $\mu = 0,1$)

1. Eisessig 12,006g
50%iger Alkohol ad 1000 ml
2. Natriumacetat + 3 H₂O 27,199 g
50%iger Alkohol ad 1000ml

Von der Eisessiglösung unter 1 wurden 455,0 ml mit der unter 2 angegebenen Natriumacetatlösung ad 1000 ml aufgefüllt. Gut verschlossen war dieser Puffer haltbar.

Lösung III: Lösung zum Auspräzipitieren der übrigen Serumfraktionen.

Eisessig 10 ml
Glycerin 150 ml
Aqua dest. ad 1000 ml werden bei Zimmertemperatur gut gemischt.

Arbeitsgang: Die Elektrophoreseplatten wurden bei 37°C (im Wärmeschrank) 2 - 4 Stunden in eine entsprechende Kuvette mit Lösung 1 zum Färben gelegt. Danach wurden sie 2 mal je 2 Stunden lang in Natriumacetat-Puffer pH 4,7 (Lösung 2) gewaschen und anschlies-

send bei 37°C getrocknet. Die Platten kamen schliesslich noch eine Stunde in ein Bad mit Lösung 3. Danach wurden sie wieder bei 37°C getrocknet.

h) Amylase-Nachweis (11,16,23)

Es wurde eine 3%ige Stärkelösung durch Kochen von Stärke in 1%iger NaCl-Lösung hergestellt. Diese wurde mit Michaelis - Puffer 1 : 1 gemischt, wobei 30 ml der Stammlösung ad 100 ml Puffer aufgefüllt wurden. Die Agarplatten wurden bei 37°C in bedeckten Küvetten 30 Minuten lang belassen. Danach wurde die Lösung verworfen. Die Platten wurden sodann mit 20%iger Sulfosalicylsäure (in Aqua dest. gelöst) überschichtet und 10 Minuten lang unter leichtem Schütteln in dieser Lösung belassen. Schliesslich wurden die Platten in Jodlösung gehalten (5 ml der 2%igen Tinktura Jodi ad 100 ml Aqua dest.) und so lange belassen, bis die Agarschicht gleichmäßig violettblau gefärbt war. An der Stelle des Stärkeabbaues durch Amylase blieben weisse bis rötliche Aussparungen. Sie erschienen im Serum im Bereich der β_2 -Globuline.

E r g e b n i s s e

Agarelektrophoretische Ergebnisse von Färbe- und Fermentreaktionen.

1) Ausgangswerte:

An einem Serumpool von 30 unbehandelten Wistar-Ratten wurden folgende Ergebnisse gewonnen (Abb.1):

Proteine:

Nach agarelektrophoretischer Trennung und nachfolgender Färbung mit Amidoschwarz 10 B ergab sich eine Differenzierung der Proteine des Rattenserums in insgesamt 5 Fraktionen. Eine kräftig hervortretende Komponente entsprach der Wanderungsgeschwindigkeit von Albuminen. Außerdem zeigten sich anodisch 2 Fraktionen an der Stelle der α -Globuline, von welchen die zweite nur schmal und außerdem schwächer gefärbt erschien. Kathodisch konnte eine kräftige Farbzone dargestellt werden, die den β_1 -Globulinen zuzuordnen ist. Im γ -Globulinbereich wurde eine schwache Anfärbung faßbar.

Kohlehydrate:

Mit Schiff'schem Reagens und Perjodsäure ließen sich vor allem anodisch gewanderte Proteine anfärben. Im α_1 / α_2 -Globulinbereich wurden 3 schwache, konfluierende Farbzonen nachweisbar. Die Auftragsstelle wurde mitangefärbt. Kathodisch wurde eine zarte Farbreaktion faßbar, die den γ -Globulinen entspricht.

Lipoide:

Mit Sudanschwarz B ließen sich vier Fraktionen abgrenzen; deren erste lag im Präalbuminbereich, eine zweite scharf abgrenzbare, schmale an der Stelle der Albumine, sowie eine breite Verschlierung, die den α_1 / α_2 - Globulinen zugeordnet werden kann.

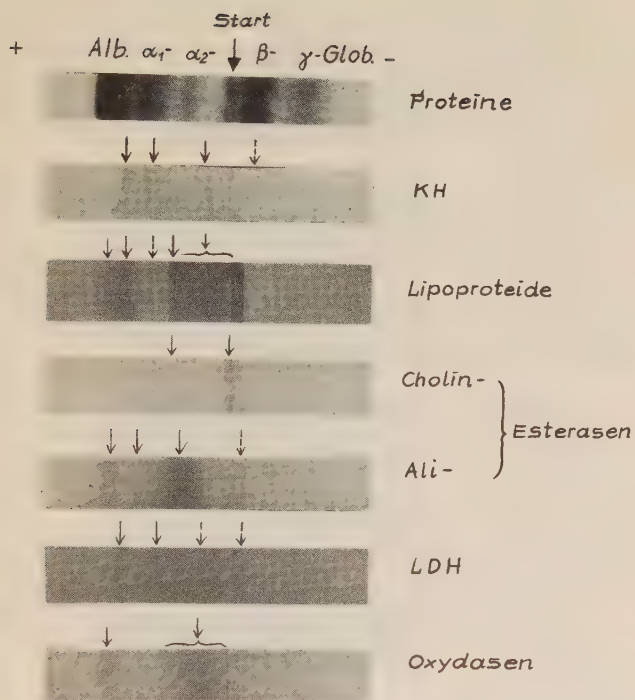


Abb. 1

Agarelektrophoretische und biochemische Analysen des Serums unbehandelter Ratten.

Esterasen:

Mit Indoxylacetat konnte Esteraseaktivität an zwei Stellen sichtbar gemacht werden: es zeigte sich eine schmale Farbzone im Albumin- α_1 -Globulinbereich, eine weitere, breite und intensiv angefärbte Fraktion im Gebiet der α_2 -Globuline.

Mit β -Naphthylacetat waren 4 Komponenten zu differenzieren: eine mit der Wanderungsgeschwindigkeit von Albuminen, sowie ein Komplex im α_1 / α_2 -Globulinbereich, der seinerseits 3 Fraktionen erkennen ließ.

Lactatdehydrogenase-Aktivität:

An LDH-aktiven Komponenten waren drei anodisch gewanderte Fraktionen zu differenzieren: eine im Präalbumin-, zwei im α_1 / α_2 -Globulinbereich.

Oxydase-Aktivität:

Mit p-Phenylendiamin konnte im Gebiet der α_2 -Globuline eine schmale Braunfärbung nachgewiesen werden.

Amylase-Aktivität:

Amylaseaktivität war im Bereich der β -Globuline als eine scharfe umschriebene Aufhellungszone darstellbar.

2) Yoshida-Tumor

Die agarelektrophoretischen Analysen von den Seren fünf verschiedener Ratten mit Yoshida-Tumoren ergaben folgendes (Abb.2):

Proteine:

Mit Amidoschwarz 10 B konnten 5 sichere Fraktionen dargestellt werden: eine kräftig hervortretende

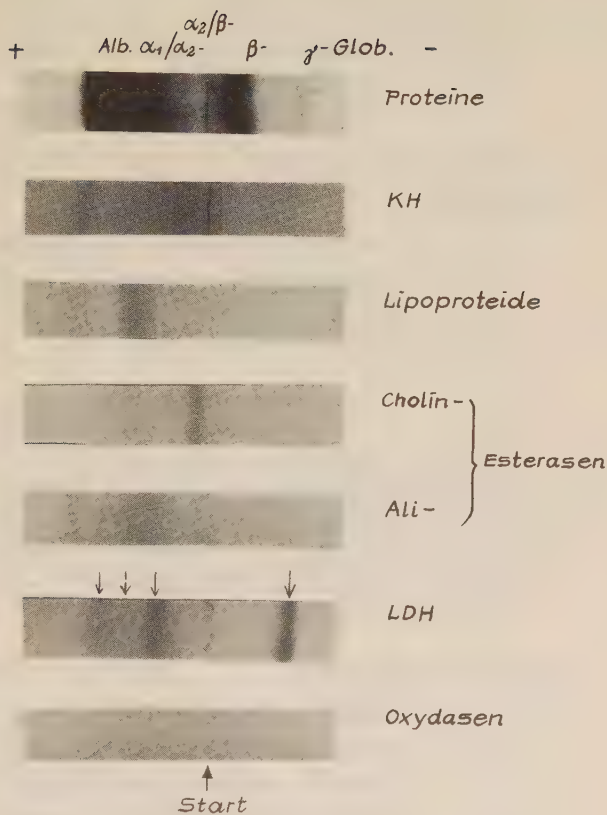


Abb. 2

Agarelektrophoretische und biochemische Analysen des Serums von Ratten mit Yoshida-Sarkom. Man beachte die Dysproteinämie sowie das Auftreten eines stark konzentrierten Iso-Enzyms der LDH im Bereich der γ -Globuline (LDH V).

Komponente entsprach der Wanderungsgeschwindigkeit der Albumine; es imponierten weiterhin 2 deutlich gefärbte Fraktionen im α -Bereich, sowie eine Komponente, die dem β_1 -Globulin entsprechen dürfte. Schwächer, aber breitbasig erwies sich eine Fraktion im Bereich der γ -Globuline.

Kohlehydrate:

Es zeigte sich eine Fraktion im Albumin/ α_1 -Globulinbereich, eine breite Bande an der Stelle der α -Globuline, sowie kathodisch eine Komponente, die dem γ -Globulin zuzuordnen ist.

Lipide:

Mit Sudanschwarz B konnten 4 Fraktionen dargestellt werden, bei denen die erste im Albumin/Präalbumin-Bereich, zwei weitere schmale Farbzonen im Bereich der α_1 -Globuline, die vierte, breit und nur schwach gefärbt im Gebiet der α_2 -Globuline lokalisiert waren.

Esterase-Aktivität:

An esteraseaktiven Fraktionen konnten mit Indoxylacetat eine im α -Globulinbereich nachgewiesen werden; eine zweite stellte sich unmittelbar anodisch der Auftragestelle dar, sie war intensiv angefärbt.

Mit β -Naphthylacetat waren 4 anodisch gewanderte Komponenten abzugrenzen. Eine Farbzone fand sich im Gebiet der Präalbumine, 3 Fraktionen im α_1/α_2 -Globulinbereich, von welchen besonders die mittlere breit und intensiv zur Darstellung gelangte.

LDH-Aktivität:

LDH-Aktivität konnte auf Grund der Färbung mit Nitroblautetrazolium in 4 Fraktionen nachgewiesen

werden. Am meisten imponierte eine dunkelviolettfärbte Zone, die einem γ -Globulin zuzuordnen ist, während im anodischen Bereich 3 Fraktionen schmal und schwach gefärbt darstellbar waren.

Peroxydase-Aktivität:

Es ließ sich eine stark gefärbte Komponente im Bereich der α_2 / β - Globuline nachweisen.

Oxydase-Aktivität:

Oxydaseaktivität konnte in Spuren um die Auftragestelle im α_1 -Globulin-Bereich erfaßt werden.

Amylase-Aktivität:

Als Amylaseaktivität zeigte sich auf Grund einer relativ breiten Aufhellungszone im β -Globulin-Bereich. Anodisch fand sich eine rotviolette Zone an der Stelle der Albumin/ α_1 -Globuline.

3) Walker - Tumor:

Die agaroselektrophoretischen Analysen von den Seren 5 verschiedener Ratten mit Walker-Tumoren ergaben folgendes (Abb.3):

Proteine:

Mit Amidoschwarz 10 B ließen sich 5 Fraktionen darstellen: Eine Komponente, die besonders deutlich hervortrat, fand sich an der Stelle der größten elektrophoretischen Mobilität. Im Anodischen zeigten sich noch zwei Fraktionen; eine im α_2 -Globulin-Bereich, eine zweite, breitere, etwas intensivere Färbung, den α_1 -Globulinen entsprechende. Kathodisch konnten den β - und γ -Globulinen entsprechende Fraktionen nachgewiesen werden.

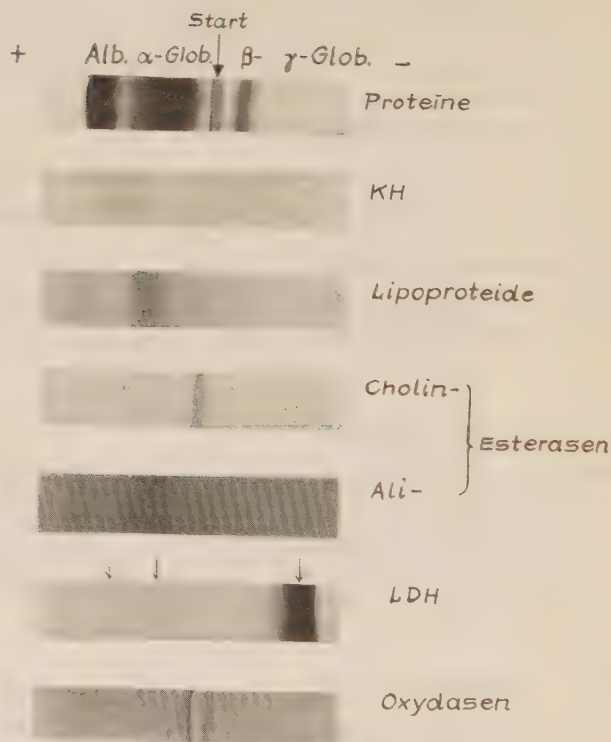


Abb. 3

Agarelektrophoretische und biochemische Analysen des Serums von Ratten mit Walker-Carcinom. Dysproteinämie sowie Neuauftreten eines Iso-Enzyms der LDH im Bereich der γ -Globuline.

Kohlenhydrate:

Die Glycoproteidfärbung mit Schiff'schem Reagens erstreckt sich über 5 Fraktionen, von denen 2 breite Komponenten im Kathodischen imponierten und mit β - und γ -Globulinen identisch waren. Ferner gelangten im Gebiet der am schnellsten gewanderten Fraktionen eine schmale Komponente mit deutlicher Anfärbbarkeit, eine zweite im α_1 -Globulin-Bereich, eine dritte im α_2 -Bereich zur Darstellung.

Lipoide:

Mit Sudanschwarz B ließen sich anodisch 4 Komponenten differenzieren; ein Komplex im α_1 -Globulin-Bereich, der 3 Fraktionen erkennen ließ, unter welchen die mittlere am deutlichsten hervortrat. Eine schwache Farbreaktion vor der Auftragestelle, die den α_2 -Globulinen entsprechen dürfte. Im Präalbuminbereich fiel eine umschriebene helle Aussparung auf.

Esterasen:

Mit Indoxylacetat konnten insgesamt 2 Fraktionen erfasst werden; eine schwach tingierte Farbzone im α_1 / α_2 -Globulin-Bereich, eine zweite stellte sich ein wenig deutlicher um die Auftragestelle dar.

Mit β -Naphthylacetat waren 2 relativ gut anfarbbare Komponenten im anodisch gewanderten Bereich nachzuweisen; an der Stelle der Präalbumine zeichnete sich eine schmale, im Bereich der α_2 -Globuline eine breitsasige Fraktion ab.

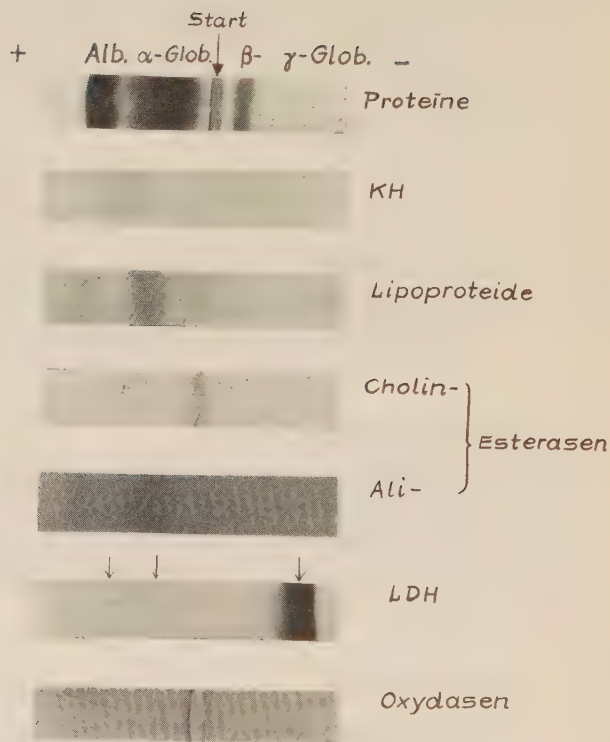


Abb. 3

Agarelektrophoretische und biochemische Analysen des Serums von Ratten mit Walker-Carcinom. Dysproteinämie sowie Neuaufreten eines Iso-Enzyms der LDH im Bereich der γ -Globuline.

Kohlehydrate:

Die Glycoproteidfärbung mit Schiff'schem Reagens erstreckt sich über 5 Fraktionen, von denen 2 breite Komponenten im Kathodischen imponierten und mit β - und γ -Globulinen identisch waren. Ferner gelangten im Gebiet der am schnellsten gewanderten Fraktionen eine schmale Komponente mit deutlicher Anfärbbarkeit, eine zweite im α_1 -Globulin-Bereich, eine dritte im α_2 -Bereich zur Darstellung.

Lipide:

Mit Sudanschwarz B ließen sich anodisch 4 Komponenten differenzieren; ein Komplex im α_1 -Globulin-Bereich, der 3 Fraktionen erkennen ließ, unter welchen die mittlere am deutlichsten hervortrat. Eine schwache Farbreaktion vor der Auftragestelle, die den α_2 -Globulinen entsprechen dürfte. Im Präalbuminbereich fiel eine umschriebene helle Aussparung auf.

Esterasen:

Mit Indoxylacetat konnten insgesamt 2 Fraktionen erfaßt werden; eine schwach tingierte Farbzone im α_1 / α_2 -Globulin-Bereich, eine zweite stellte sich ein wenig deutlicher um die Auftragestelle dar.

Mit β -Naphthylacetat waren 2 relativ gut anfärbbare Komponenten im anodisch gewanderten Bereich nachzuweisen; an der Stelle der Präalbumine zeichnete sich eine schmale, im Bereich der α_2 -Globuline eine breitbasige Fraktion ab.

LDH-Aktivität:

An LDH-aktiven Komponenten waren 2 im Anodischen, dem Gebiet der α_1/α_2 -Globuline entsprechend, eine dritte im Kathodischen, schmalbasig, intensiv gefärbt, dem γ -Globulin identisch, zu differenzieren.

Amylase-Aktivität:

Amylaseaktivität war kathodisch im β -Globulin-Bereich als eine helle, weniger deutlich umrissene Aussparung faßbar. Im γ -Bereich imponierte eine breite Bande.

4) Anti-Yoshida

Eine Gruppe von 10 Ratten wurde mit Anti-Yoshida-Serum vom Kaninchen behandelt und anschließend mit Yoshida-Tumorzellen transplantiert (Abb.4).

Proteine:

Mit Amidoschwarz 10 B ließ sich kathodisch eine deutlich begrenzte Farbzone darstellen, die dem β -Globulin, eine geringer hervortretende, die dem γ -Globulin entspricht; während anodisch 3 Komponenten faßbar waren. An der Stelle der Albumine fiel eine intensiv gefärbte breite Fraktion auf, außerdem fanden sich zwei schwächer tingierte Komponenten, welche α_1 bzw. α_2 -Globulinen entsprechen dürfte.

Kohlehydrate:

Mit Schiff'schem Reagens und Perjodsäure konnten 3 Farbzonen erfaßt werden: im anodischen Bereich fiel eine schnell wandernde Komponente in der Zone der Albumine auf, ferner eine breite Bande, deren Intensität in Richtung Auftrage=

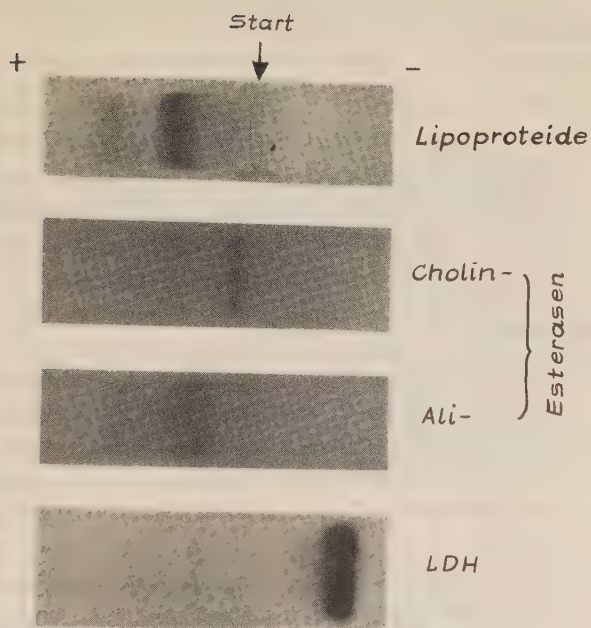


Abb. 4

Gegenüberstellung von Lipoproteiden, esteraseaktiven Fraktionen und Isoenzymen der LDH bei Analyse eines Rattenserums mit Yoshida-Sarkom.

stelle zunahm. Außerdem zeichnete sich eine Fraktion an der Stelle der γ -Globuline ab.

Lipide:

Mit Sudanschwarz B waren 4 Farbzonen sichtbar. Im α -Globulin-Bereich wurde ein Komplex von 3 Komponenten differenziert: eine kaum angedeutet, eine zweite deutlich angefärbt und schmalbasig, die dritte noch stärker gefärbt und mit der zweiten konfluierend.

Esterasen:

Mit Indoxylacetat ließ sich die Esteraseaktivität an 2 Stellen sichtbar machen; unmittelbar im Anodischen vor der Auftragestelle, sowie weit im anodischen Bereich, wobei dort 2 Fraktionen im Albumin/ α -Globulin-Bereich zu differenzieren waren.

Mit β -Naphthylacetat waren 3 esteraseaktive Komponenten nachweisbar. Eine vor den Albuminen, 2 im α -Bereich. Außerdem färbte sich die Auftragestelle.

LDH-Aktivität:

Mit Regelmäßigkeit waren an Stelle der γ -Globuline eine an ihrer intensiven Färbung auffallende breite Bande nachweisbar. Im anodischen Bereich ließen sich 3 Fraktionen im α -Globulingebiet erfassen.

Amylase-Aktivität:

Amylaseaktivität fand sich im Bereich der α_2/β -Globuline als eine Aufhellungszone. Darüber hinaus kamen noch Farbreaktionen im Gebiet der α_1 - und γ -Globuline zur Darstellung.

5) Anti - Walker

10 Versuchstiere wurden mit Anti-Walker-Serum vorbehandelt und anschließend applizierte man ihnen Walker-Tumorzellen(Abb.5).

Proteine:

Mit Amidoschwarz 10 B ließ sich kathodisch eine deutlich begrenzte Farbzone darstellen, die wohl dem γ -Globulin entspricht, während anodisch 4 Komponenten faßbar waren. An der Stelle der Albumine fiel eine intensiv gefärbte Fraktion auf. Im α/β -Globulin-Bereich zeichnete sich ein Komplex aus drei Komponenten ab, von denen die mittlere eine breite, kräftig gefärbte Bande aufwies, die dem α_2 -Globulin zuzuordnen ist.

Kohlehydrate:

Mit Schiff'schem Reagens und Perjodsäure wurden anodisch 4 Farbzonen erkannt; eine erste im Präalbumin-, eine zweite im Albumin-, eine dritte im α -Globulin-Bereich zur Darstellung gelangten. Eine unmittelbar vor der Auftragestelle nur schwach gefärbte Komponente dürfte dem β -Globulin zugeordnet werden.

Lipoide:

Mit Sudanschwarz B ließen sich 3 Fraktionen abgrenzen. Es imponierte eine intensive breite Farbzone im Bezirk der α -Globuline. Ferner wurde eine im Präalbumin- und eine zweite schwer abgrenzbare im β -Globulin-Bereich faßbar.

Esterasen:

Mit Indoxylacetat war eine esteraseaktive Komponente im α_2/β -Globulin-Bereich nachzuweisen, während mit β -Naphthylacetat 4 Fraktionen sichtbar werden konnten.

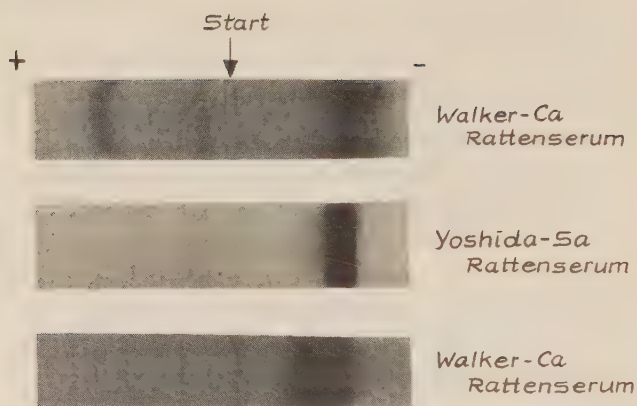


Abb. 5

Agarelektrophoretische Analysen verschiedener Seren
von Ratten mit Yoshida-Sarkom bzw. Walker-Carcinom.

LDH-Darstellung

Anodisch wurden 3 Fraktionen differenziert; eine deutlich hervortretende Fraktion an Stelle der α_2 -Globuline entsprach der größten Fermentaktivität. Außerdem zeigte sich eine Fraktion im Albumin-, eine weitere im α_1 -Globulin-Bereich. Die im Kathodischen gelegene Fraktion entspricht auf Grund der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit einem γ -Globulin.

LDH-Aktivität:

LDH-Aktivität zeigte sich auf Grund der angewandten Farbreaktionen in einem scharf begrenzten intensiv violett gefärbten Bezirk weit im Kathodischen. Anodisch fielen zwei zarte, den α_1/α_2 -Globulinen gleichende Fraktionen auf.

Oxydase-Aktivität:

Mit p-Phenylendiamin ließ sich an umschriebener Stelle im Bereich der α_2 -Globuline eine positive Farbreaktion nachweisen.

D i s k u s s i o n :

Über die normale Serumeiweißkonstellation der Ratte sind im einschlägigen Schrifttum (14,22,37) und auch auf Grund früherer, eigener umfassender Studien fundierte Kenntnisse gegeben. Diese Befunde entsprechen, mit Bezug auf die Proteinkonstellation, den vorliegenden neueren elektrophoretischen Ergebnissen mit Agartech=nik. Hinsichtlich der weiteren Charakterisierung der Serumproteine der unbehandelten Ratte konnte insge=samt festgestellt werden, daß Glycoproteide praktisch an alle Serumfraktionen gebunden sind, daß jedoch ihr höchster Anteil im α -Globulinbereich nachweisbar wird.

Lipoproteide finden sich relativ schwach als α_2 -und α_1 -Fraktionen, darüberhinaus schnell wandernde Kompo=menten im Albumin- und Präalbumin-Bereich, die jedoch durch ihre außerordentlich geringe Konzentration aus=gezeichnet sind. Unter den Fermenten fiel insgesamt die relativ schwache Darstellbarkeit auf, die auf ge=ringe Konzentration schließen läßt. Insbesondere trifft dies für LDH zu.

An esterase- als auch LDH-aktiven Fermenten ließen sich mehrere Isoenzyme nachweisen; sie fanden sich im Bereich der anodisch gewanderten Proteine.

Die Serumeiweißkörper der Gruppe der tumortragenden Tiere ließen folgende Besonderheiten erkennen: unter den mit Amidoschwarz 10 B darstellbaren Prote=inen fiel vor allem eine Anreicherung von α_1 -Globu=linen auf, unter den Glycoproteiden eine Intensi=vierung der Glycoproteide des α_1 -und α_2 -Bereiches, Befunde, die aus der Humanpathologie als relative Tu=morkriterien bereits bekannt sind (7,22,24,37).

Außerdem fanden sich eine relative Vermehrung von Lipoproteiden, eine Anreicherung der Esterasen, ohne jeweilige qualitative Abwandlungen der genannten Serum=

faktoren. Bei der LDH fiel eine enorme Farbintensität in einer breitbasigen aber insgesamt scharf begrenzten Fraktion im γ -Globulin-Bereich auf, während im anodischen Bereich 3 schwache Farbzonen differenziert werden konnten. Die Farbintensität dürfte wohl ein Maß für die Fermentaktivität darstellen (25,33), woraus eine enorme Anreicherung von LDH im Serum dieser Ratten abzuleiten ist. Das Phänomen bei sämtlichen Tieren mit unterschiedlichem quantitativen Ausmaß der Yoshida-Reihe beobachtet werden. Auffallend ist, daß die Lokalisation des Isoenzym im γ -Globulin-Bereich im Serum einer normalen Ratte kein Äquivalent findet, zumindest sind die Konzentrationen so gering, daß mit vorliegender Technik der Nachweis nicht gelang. In den Seren der Walker-Trägartiere fanden sich in etwa gleich Veränderungen wie in der Yoshida-Gruppe. Mit Bezug auf die LDH ergaben sich jedoch größere Unterschiede in der relativen Verteilung der LDH-Aktivität auf die verschiedenen Isoenzyme. Insbesondere zeigten sich hier verschiedentlich auch die im anodischen Bereich gewanderten Komponenten stärker angereichert, während die in der Zone der γ -Globuline (Fraktion 5) weniger in Erscheinung tritt als bei den tumortragenden Ratten (vgl. Abb).

Die Peroxydase ließ sich in den Seren tumortragender Ratten in den meisten Fällen auffallend stark nachweisen. Dieser Befund ist jedoch mit Einschränkungen belastet, da ein Teil von untersuchten Seren nicht völlig frei von Hämolyse war und infolgedessen eine Anreicherung der benzidinpositiven Farbreaktion durch Hämoglobin entstand.

Die Oxydasereaktion ergab keine Besonderheiten. Ebenso ist aus dem zwar eiwandfrei starken Amylase-Nachweis kein sicheres pathologisches Kriterium abzuleiten, da weder quantitative noch qualitative Änderungen

offensichtlich wurden.

Die Gruppe der gleichzeitig mit Anti-Tumor-Extrakt behandelten Tiere ergab im Vergleich zu den eben genannten Reihen keine besonderen Neuerungen in ihrer Serumkonstellation. Auch hier war als interessantester Befund einer enormen Anreicherung der LDH in einer kathodisch gewanderten Fraktion in allen untersuchten Seren auffällig, desgleichen die quantitative Vermehrung der übrig untersuchten Fermentsysteme. Der weitaus interessanteste Befund stellt in den hier dargelegten Ergebnissen der Nachweis der LDH dar. Es ist mit Sicherheit anzunehmen, daß diese dem Tumor entstammt und somit ein diagnostisch verwertbares Kriterium die Existenz eines derartigen Malignoms darstellt. Der Beweis kann in zweifacher Hinsicht geliefert werden: eigene Studien an den hier verwendeten Tumoren haben ein Fermentmuster gezeigt, das dem hier nachweisbaren Isoenzymtyp absolut gleicht, d.h. in den Extrakten dieser Tumoren fiel die stark konzentrierte LDH-Fraktion im kathodischen Bereich auf. Außerdem stellt die besagte LDH-Komponente für das Ratten-serum, welches ein anderes Isoenzymmuster zeigt, eine additive Komponente dar, die offenbar durch Permeabilitätsstörung (Zerfall) in die Blutbahn eingeschleust wurde.

Inwieweit die relative Anreicherung der Esterasen ebenfalls als tumorspezifisch betrachtet werden kann, ist insofern weniger einwandfrei zu beantworten, als hier keine qualitativen Änderungen einhergehen. Es ist aber möglich, daß bei Liberierungsmechanismen aus Tumorzellen auch deren Esterasen in die Blutbahn des Trägerorganismus eingeschwemmt werden können und daß somit ihr quantitatives Ansteigen diagnostisch verwertbar wäre.

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse systematischer Serumeiweißanalysen tumortragender Ratten haben gezeigt, daß mit den hinlänglich bekannten Proteinverschiebungen auch das Glykoproteidmuster sowie Fermente des Serums offenbar charakteristische Phänomene erkennen lassen. Während für die vorliegende Versuchsanordnung die Herkunft der LDH aus dem Tumorgewebe unter Zuhilfenahme früherer Analysen des Homogenats der hierfür beobachteten Tumoren bewiesen werden konnte, bleibt vorerst noch offen, ob die Anreicherung von Glycoproteiden ebenfalls direkt dem jeweiligen Tumor entstammt. Die stärkere Vermehrung der α_2 -Glycoproteide kann ebenso als Ausdruck einer Eiweiß-Stoffwechselalteration im Rahmen der Tumorerkrankung aufgefaßt werden. Für die Esterasen und andere hier mitbestimmte Fermente scheint ein Freisetzungsmechanismus aus dem Tumor in die Blutbahn des tumortragenden Tieres nicht vorzuliegen, da qualitativ abartige bzw. neuauftretende Esterasen im Serum der Versuchsratten in keinem Fall nachweisbar waren. Die Diskrepanz in den Fermentbefunden läßt die Frage auftauchen, ob die LDH gegenüber anderen Fermenten kleinmolekulare Proteine darstellt und somit durch geringe Permeabilitätsstörung der Tumorzelle librieriert wird, oder ob ihr Auftreten im Serum überhaupt nicht als Folge eines Zellgrenzschadens bzw. Tumorzerfalls, sondern als aktiv sezerniertes Stoffwechselprodukt der Tumorzelle aufzufassen ist, ein Problem, das weiterer eingehender Studien bedarf.

Z u s a m m e n f a s s u n g :

An tumortragenden Ratten wurden die Serumproteine mit zusätzlicher Charakterisierung der Glyco- und Lipoproteide sowie einzelner Serumfermente, unter ihnen vor allem der Esterasen und der LDH, nach agaroelektrophoretischer Trennung durch verschiedene, aus der Histochemie übernommene, Farbreaktionen systematisch analysiert. Insgesamt handelte es sich um mehrere Proben (Kontrollen) der Seren von 30 Ratten, welche in 2 Gruppen unterteilt wurden. Eine Gruppe von 10 Ratten umfaßte tumortragende Tiere ohne weitere Behandlung. Fünf von ihnen erhielten Yoshida-, die anderen fünf Walker-Tumorzellen inoculiert. Eine weitere Gruppe von 20 Versuchstieren wurde mit einem jeweils spezifischen Anti-Tumor-Serum vorbehandelt und bekam anschließend Tumorzellen transplantiert. An 10 von diesen Tieren wurden die Versuche mit Yoshida-Sarkom, an den übrigen 10 mit Walker-Carcinom durchgeführt.

Als wesentliches Ergebnis konnte eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Dysproteinämie mit Hypalbuminämie und relativer Anreicherung von α -Glycoproteiden, ferner eine relative Vermehrung nahezu aller hier bestimmten Fermente sowie eine stark vermehrte LDH-Konzentration mit Neuauftreten einer tumorspezifischen LDH V aufgezeigt werden.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s :

1) BRADA, Z.:

- a) Mucoproteins and mucopolysaccharides in tumor cell.

Acta Un. int. Cancer 20, 945 (1964)

- b) Host-tumour relationship. XX. The hexosamine content of the tumour as a marker of relation between the tumour stroma and tumour cells. Neoplasma (Bratisl.) 12, 373 (1965)

2) BURGESS, E.A. and B. SYLVEN:

Glucose lactate and lactic dehydrogenase activity in normal interstitial fluid and that of solid mouse tumours.

Cancer Res. 22, 581 (1962)

3) CAPUTO, A. and M.L. MARCANTE:

Protein changes occurring in blood serum and ascitic fluid in rats with Yoshida ascites tumours.

Acta Un. int. Cancr. 18, 99 (1962)

4) CATCHPOLE, H.R.:

Serum and tissue glycoproteins in mice bearing transplantable tumours.

Proc. Soc. exp. Biol. (NY) 75, 221 (1950)

5) COLOMBO, :

Mündliche Mitteilung.

6) CREMER, H.D. und J. FÜHR:

In: Hoppe-Seyler Thierfelder, Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse. Springer-Verlag, Berlin - Göttingen - Heidelberg 1953, 10.Auflage, Bd.II.

7) DITTMAR, C.:

In: Hoppe-Seyler Thierfelder, Handbuch der physiologischen und pathologisch-chemischen Analyse. Springer-Verlag, 1953, 10.Aufl., Bd.V .

8) DOLEZALOVA, V. and Z. BRADA:

a) Host-tumour relationship. XXI. Proteins distribution according to molecular size between the serum and ascites fluid in the course of development of Yoshida ascites tumours in rats. Neoplasma (Bratisl.) 11, 257 (1964)

b) and A. KOCENT:

Host-tumour relationship. XIII. Proteins, mucoproteins and their saccharide components in the serum and ascitic fluid of rats in the course of growth of Yoshida ascitic sarcoma. Neoplasma (Bratisl.) 11, 257 (1964)

c) and J. HEKELOVA:

Host-tumour relationship XV. Comparison of proteins in the blood and ascites serum of rats with Yoshida ascites tumour. Neoplasma (Bratisl.) 11, 361 (1964)

9) FRENGER, W., F. SCHEIFFARTH, H. GÖTZ und G. BERG:

In: Henning, N. Klinische Laboratoriumsdiagnostik Urban u. Schwarzenberg, München - Berlin - Wien, 1966

10) GÖTZ, H., G. BERG und F. SCHEIFFARTH:

Methodische Grundlagen der Immunoелеktrophorese. Ztschr. Immun. Forsch. 114, 72 (1957)

11) GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH und D. HOFFMANN:

Diastasenachweis in einigen menschlichen Organextrakten mit Hilfe der Elektrophorese im Agargel. Ztschr. Gastroenterologie 2, 76 (1964)

12) GÖTZ, H., F. SCHEIFFARTH, H. WARNATZ und U. KLOBE:

Serologische und immunologische Studien an tumortragenden Ratten unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Mitteilung II : Walker - Tumoren.

13) GRABAR, P.:

Etudes sur les proteïns à l'aide de methodes immunocliniques.

Bull. Soc. Clin. Biol. 36, 65 (1954)

14) GRABAR, P. and R. BURTIN:

Analyse immuno-electrophoretique.

Masson u. Cie, Paris 1960

15) GRABAR, P. and C.A. WILLIAMS:

Methode permettant l'etude conjugee des propriétes electrophoretiques et immuno-cliniques d'un melange de proteïnes; application au serum sanguin.

Biochim. Biophys. Acta 10, 193 (1953)

16) HEINKEL, K., H. GÖTZ, F. SCHEIFFARTH und H. DUDEK:

Der Nachweis amylaseaktiver Komponenten in Proteingemischen mit der Stärke-Agargel-Elektrophorese.

Ztschr.f.Gastroenterologie 3/3 , 154-158 (1965)

17) JAYLE, M.F. et G. BOUSSIER:

Les séromucoides du sang. Leurs relations avec les mucoprotéïnes de la substance foudamentale du tissu conjonctif.

Exp. Ann. Biochim. Med. 17, 157 (1955)

18) KENT, H.N. and G.O. GEY:

a) Changes in serum proteins during growth of malignant cells in vitro.

Proc. Soc. exp. Biol. (NY) 94, 205 (1957)

b) Selective uptake of serums globulins and glycoproteins by cells growing in vitro.

Science 131, 667 (1960)

19) PECHAN, Z.:

Hexosamine containing substances in cancer. III. Excretion of dialyzable hexosamine in urine. The influence of age and malignant tumour disease. Neoplasma 11, 37 (1964)

- 20) PECHAN, Z. and Z. BRADA:
Host-tumour relationship. V. Hexosamine
distribution in rat organs in dependence on
growth of the BS tumour.
Neoplasma (Bratisl.) 7, 366 (1960)
- 21) PIRANI, C.L. and H.R. CATCHPOLE:
Serum glycoproteins in experimental scurvy.
Arch. Path. 51, 597 (1951)
- 22) RIVA, G.:
Das Serumeiweißbild.
Verlag Hans Huber, Bern und Stuttgart, 1957
- 23) SCHEIFFARTH, F. und H. GÖTZ:
Eine Methode zum Diastasenachweis. Agarelektro-
phoretisch gebundene Proteingemische.
Klin. Wschr. 42, 130 (1964)
- 24) SCHEIFFARTH, F., G. BERG und H. GÖTZ:
Papierelektrophorese in Klinik und Praxis.
Urban u. Schwarzenberg, München-Berlin, 1962
- 25) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und F. CZAGANY:
Zur quantitativen Bestimmung der Coeruloplas-
minkonzentration im Serum (Unter besonderer
Berücksichtigung von Leberparenchymerkrankun-
gen und malignen Prozessen).
Med. Welt 28, 1449-1453 (1961)
- 26) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ und S. EBERT:
Über esteraseaktive Fraktionen in verschie-
denen menschlichen Organextrakten.
Clin. Chim. Acta 14, 519-527 (1966)
- 27) SCHEIFFARTH, F., H. GÖTZ, H. WARNATZ und K. GÜNTHER:
Serologische und immunologische Studien an
tumortragenden Ratten unter verschiedenen
Versuchsbedingungen.
Mitteilung I : Yoshida-Tumoren.

- 28) SCHWICK, G. und K. STÖRIKO:
Immunoelktrophorese.
Laboratoriumsblätter, Behringwerke, Marburg/
Lahn, Mai 1964, 61-64
- 29) TOBISKA, J. and Z. BRADA, A. KOCENT and Z. PECHAN:
a) Host-tumour relationship. X. The role of the
liver in serum glycoprotein synthesis during
the course of experimental inflammation.
Neoplasma (Bratisl.) 11, 3 (1964)
b) Host-tumour relationship. XI. The role of the
liver in the synthesis of serum glycoproteins
during the course of growth of Jensen's sar-
coma.
Neoplasma (Bratisl.) 11, 13 (1964)
- 30) URIEL, J.J.:
a) Etude de l'activite enzymatique de la cerulo-
plasmine du serum humain apres electrophorese
en gelose.
Bull. Soc. Clin. Biol. 39, Suppl. I, 105 (1957)
b) In GRABAR, P. und P. BURTIN:
Analyse immuno-electrophoretique, Masson u.Cie,
Paris 1960, S.46-56.
- 31) URIEL, J. Und P. GRABAR:
Emploi de colorants dans l'analyse electropho-
retique en milieu gelique.
Ann. Inst. Pasteur 90, 429 (1956)
- 32) URIEL, J. and J. SCHEIDEGGER:
Electrophorese en gelosa et coloration des
constituants.
Bull. Soc. Chim. Biol. 37, 165 (1955)
- 33) URIEL, J., H. GÖTZ und P. GRABAR:
Etude de la ceruloplasmine du serum humain par
electrophoretique en gelosa et l'analyse immuno-
electrophoretique du cuivre lie aux proteines.
Schweiz. Med. Wschr. 87, 431 (1957)

34) VAN DER HELM, H.I.:

A simplified method of demonstrating lactic dehydrogenase isoenzymes in serum.

Clin.Chim.Acta 7, 124 (1962)

35) VOZEJL, J.M. and J. ZAJICEK:

Quantitative determination of enzymic activities in cells and in extracellular fluid aspirated from human tumors by needle biopsy.

Experientia (Basel) 18, 143 (1962)

36) WILLIAMS, C.A. und P. GRABAR:

Immunoelectrophoretic studies of serumproteins.

I. The antigens of humanserum.

I. Immunol. 74, 158 (1955)

37) WUHRMANN, F., E. MÄRKI und H. HEINRICH:

Dysproteinämien und Paraproteinämien. Grundlagen. Klinik. Therapie (4. völlig neu bearbeitete Auflage von " Die Bluteiweißkörper des Menschen ", 1963). Benno Schwabe u. Co, Verlag, Basel

Herrn Professor Dr. F. Scheiffarth möchte ich für die freundliche Übernahme des Referats und die Überlassung des Themas herzlich danken.

Ein besonderes Anliegen ist es mir, Frl. PD Dr. H. Götz, die mir immer mit Rat und Tat hilfreich zur Seite stand, meinen Dank auszusprechen.

Lebenslauf

Am 1.9.1941 wurde ich als Tochter des Staatsangestellten Martin Szelwis und seiner Ehefrau Anna, geb. Szardennings, in Försterei, Kreis Memel geboren.

Von 1948 bis 1951 besuchte ich die Volksschule und von 1951 bis 1959 das Gymnasium in Memel.

An dem Sonderlehrgang für Spätaussiedlerabiturienten nahm ich vom 18.9.1960 bis zum 12.7.1961 an dem Wirsberg-Gymnasium in Würzburg teil.

Am 18. Oktober 1961 immatrikulierte ich mich an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg zum Studium der Medizin. Das Physikum bestand ich im August 1964.

Die ersten beiden klinischen Semester studierte ich an der Maximilian-Universität in München. Im Wintersemester 1965/66 setzte ich das Medizinstudium in Erlangen fort.

Am 21. März 1968 habe ich mein Studium mit dem Staatsexamen beendet.



**BUCH- UND FOTODRUCK
LUDWIG MÖLLER
ERLANGEN · FAHRSTR. 5**